

Котова Е. О.^{1,2}, Кобалава Ж. Д.^{1,2}, Писарюк А. С.^{1,2}, Моисеева А. Ю.¹, Домонова Э. А.³

¹ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (РУДН), Москва, Россия

² Университетская клиническая больница имени В. В. Виноградова (филиал)

ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (РУДН), Москва, Россия

³ ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ ИНФЕКЦИОННОГО ЭНДОКАРДИТА

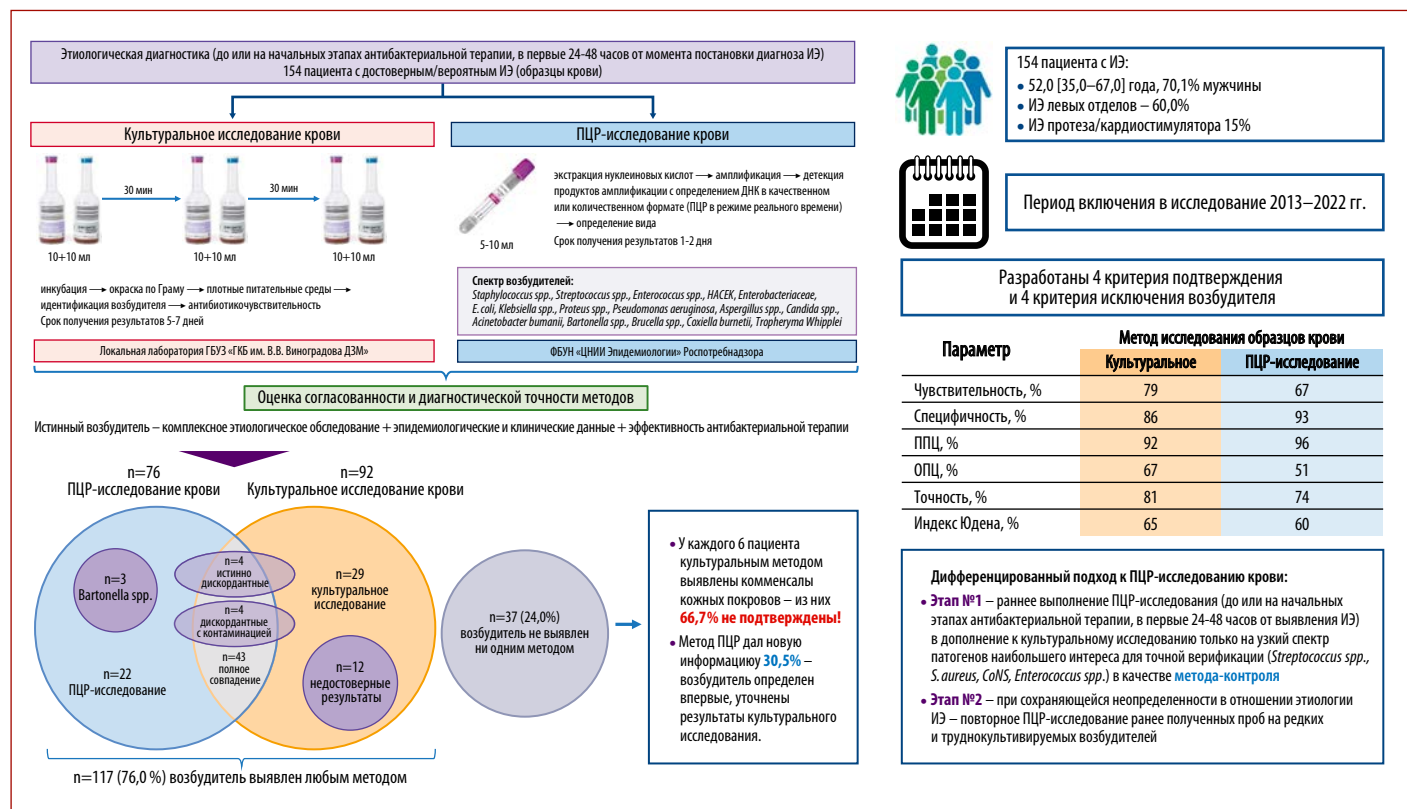
Цель	Изучение роли раннего исследования с применением полимеразной цепной реакции (ПЦР-исследования) крови (до или на начальных этапах антибактериальной терапии, в первые 24–48 ч от момента постановки диагноза) для диагностики инфекционного эндокардита (ИЭ) и усовершенствования этиологического алгоритма.
Материал и методы	Включено 154 пациента с достоверным ИЭ (DUKE, 2015), которым на этапе первичной диагностики проведены стандартные микробиологические (культуральные) исследования крови с одномоментным молекулярно-биологическим исследованием (ПЦР-исследование/секвенирование) того же вида биологического материала.
Результаты	У 117 (76,0%) обследованных в образцах крови определен этиологический агент любым из применяемых методов. Конкордантные результаты получены у 43 (36,8%) пациентов, дискордантные – у 4 (3,4%). У 29 (24,8%) пациентов возбудитель ИЭ установлен только при микробиологическом (культуральном) исследовании образцов крови, у 25 (21,4%) – только при ПЦР-исследовании, из них 3 случая <i>Bartonella spp.</i> У 23 пациентов имелись результаты микробиологического (культурального) исследования крови, требующие уточнения (70% CoNS, 26% грамотрицательные бактерии, однократно <i>Enterococcus faecalis</i>); 16 (69,6%) из 23 не подтверждены молекулярно-биологическим методом и интерпретированы как контаминация. У 1/3 пациентов ПЦР-исследование крови позволило повысить точность определения возбудителя ИЭ. На основании интегрального подхода к этиологической диагностике ИЭ разработаны критерии определения достоверного возбудителя, позволившие реклассифицировать 9 (5,9%) диагнозов в категорию достоверного ИЭ и у каждого третьего обследованного провести деэскалацию антибактериальной терапии. Микробиологическое и ПЦР-исследования образцов крови продемонстрировали сопоставимые показатели чувствительности, специфичности и диагностической точности [79,0, 86,0, 81,0% и 67,0, 93,0, 74,0% соответственно]. ПЦР-исследование крови на ранних сроках диагностики ИЭ (до или на начальных этапах антибактериальной терапии, в первые 24–48 ч от момента постановки диагноза ИЭ) предложено в качестве контроля на <i>Streptococcus spp.</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , CoNS, <i>Enterococcus spp.</i> , на поздних этапах лабораторного обследования, особенно при ИЭ с неустановленным возбудителем – как приоритетный метод.
Заключение	ПЦР-исследование образцов крови является высоко информативным методом этиологической диагностики ИЭ, позволяющим повысить точность определения возбудителя у каждого третьего пациента и на этом основании назначить эффективную антибактериальную терапию.
Ключевые слова	Инфекционный эндокардит; молекулярно-биологические методы; полимеразная цепная реакция; этиология; микробиологические методы
Для цитирования	Kotova E.O., Kobalava Zh.D., Pisaryuk A.S., Moiseeva A.Yu., Domonova E.A. Molecular Biological Methods in The Etiological Diagnostics of Infective Endocarditis. <i>Kardiologiia</i> . 2025;65(3):10–20. [Russian: Котова Е.О., Кобалава Ж.Д., Писарюк А.С., Моисеева А.Ю., Домонова Э.А. Молекулярно-биологические исследования в этиологической диагностике инфекционного эндокардита. <i>Кардиология</i> . 2025;65(3):10–20].
Автор для переписки	Котова Елизавета Олеговна. E-mail: kotova_eo@pfur.ru

Введение

Инфекционный эндокардит (ИЭ) отличается прогрессирующим ростом заболеваемости и ассоциирован со значительным риском летальных исходов [1–4]. Эффективная диагностика и лечение ИЭ зависят от каче-

ственной идентификации возбудителя. «Золотым стандартом» этиологической диагностики ИЭ является обнаружение патогена при микробиологическом исследовании образцов крови и/или тканей резецированных клапанов [3–6]. При этом ИЭ с неустановленным возбу-

Центральная иллюстрация. Молекулярно-биологические исследования в этиологической диагностике инфекционного эндокардита



дителем, по данным микробиологического исследования, не является редкостью и составляет 8,6–85,0% [3, 7–9]. Более того, разнообразный микробный пейзаж при ИЭ создает дополнительные трудности при интерпретации результатов культуральных исследований с точки зрения разграничения патогенетически значимых микроорганизмов и контаминантов. Следует помнить, что сохраняются проблемы недостаточной изученности редких форм ИЭ (*Bartonella spp., Coxiella burnetii, Tropheryma whipplei, Brucella spp.*) и культуронегативного ИЭ, причинами которого, как правило, служит использование антибактериальной терапии (АБТ) до постановки диагноза/проведения этиологического обследования, или связь с трудно культивируемыми представителями группы НАСЕК и некоторыми видами стрептококков, или ИЭ, ассоциированный с внутриклеточными бактериями и грибами [2–5].

Появление возможности применения молекулярно-биологических исследований у пациентов с ИЭ открыло новые перспективы совершенствования этиологической диагностики. Большинство исследований у пациентов с ИЭ выполнены с применением полимеразной цепной реакции (ПЦР-исследование) тканей резецированных клапанов [10–13]. Однако наиболее рациональным представляется ПЦР-исследование образцов крови, особенно на ранних этапах диагностики (до или на начальных этапах АБТ, в первые 24–48 ч от мо-

мента постановки диагноза ИЭ) и в случаях с не выявленным микробиологическим методом возбудителем. Но такие исследования малочисленны, преимущественно имеют ретроспективный характер, выполнены на малой выборке и продемонстрировали неоднозначные результаты чувствительности [14–17]. Неубедительно доказанная диагностическая ценность применения ПЦР-исследований не позволяет рекомендовать их для широкого внедрения в алгоритм этиологической диагностики ИЭ [3, 4].

Цель

Изучение роли раннего ПЦР-исследования крови (до или на начальных этапах АБТ, в первые 24–48 ч от момента постановки диагноза) для диагностики ИЭ и усовершенствования этиологического алгоритма.

Материал и методы

Проведено проспективное исследование с последовательным включением пациентов старше 18 лет с достоверным/вероятным ИЭ (согласно критериям DUKE, 2015) [18], госпитализированных в больницу им. В.В. Виноградова в период с 2013 по 2022 г. Всего за период наблюдения включены 345 пациентов с ИЭ, из которых ПЦР-исследование/секвенирование образцов крови одновременно с микробиологическим исследованием того же вида биологического материала выполнено у 154.

Критерии включения в исследование – возраст старше 18 лет; активный, достоверный/вероятный ИЭ (критерии Дюка, 2015 г.), наличие информированного согласия на сбор обезличенных медицинских данных.

Критерии исключения – неактивный ИЭ, небактериальный тромботический эндокардит, активные онкологические заболевания, пациенты, получающие иммуносупрессивную терапию.

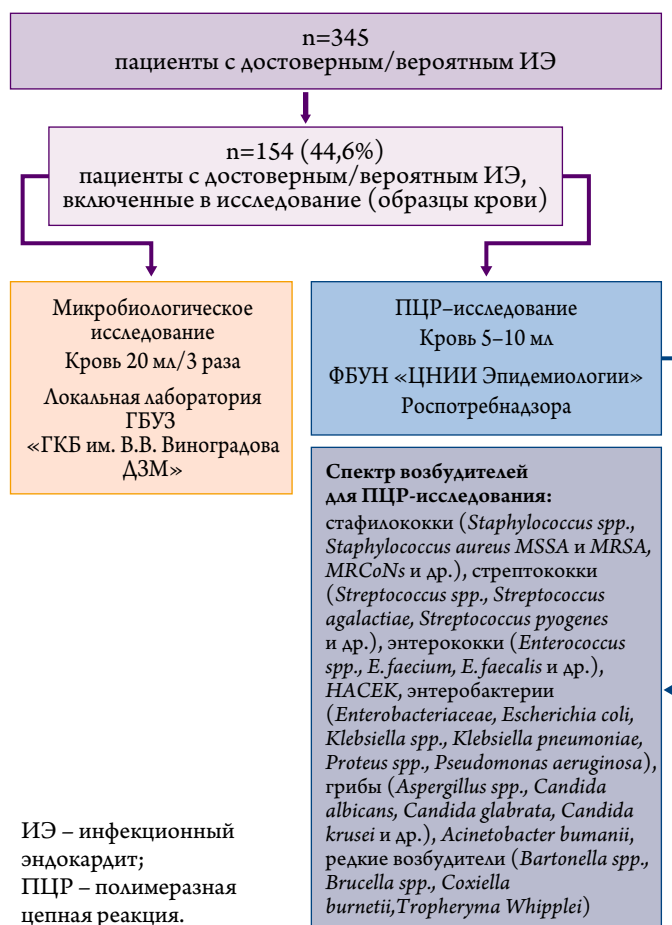
Исследование проведено в соответствии со стандартами проведения клинических исследований, соответствующих надлежащей клинической практике, принципам Хельсинкской декларации, и одобрено локальным этическим комитетом учреждения (протокол № 3 от 16.05.2013). От каждого пациента получено добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

У всех пациентов оценивали демографические данные, сопутствующую патологию, тип ИЭ, стандартные клинические и лабораторно-инструментальные показатели.

У каждого пациента, включенного в исследование, для этиологической диагностики культуральным методом трижды брали образцы крови (объемом не менее 25 мл для каждой пробы) с интервалом времени 30 мин между взятиями крови и по возможности из разных вен. Затем стандартным методом (инкубирование флаконов с аэробной и анаэробной средой длительно – 5–7 дней, окрашивание по Граму, субкультивирование образцов с положительными результатами, высевание первичной культуры крови на дифференциально-диагностические среды) определяли микроорганизмы и чувствительность к антибактериальным препаратам. Срок получения результатов культурального исследования составил 5–7 дней.

Молекулярно-биологическое исследование (ПЦР или ПЦР с последующим секвенированием) выполняли одновременно с культуральным исследованием (до или на начальных этапах АБТ, в первые 24–48 ч от момента постановки диагноза ИЭ). У каждого пациента брали образцы крови в стерильную пробирку с 6% ЭДТА емкостью 5 мл, которую доставляли в течение 24 ч в отдел молекулярной диагностики и эпидемиологии ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора [19]. После этого выполнялись стандартная процедура экстракции нуклеиновых кислот, амплификация и детекция продуктов амплификации с определением ДНК в качественном или количественном формате (ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени – ПЦР-РВ), с последующим определением видовой принадлежности микроорганизма (в том числе методом прямого секвенирования нуклеотидных последовательностей по Сэнгеру). Срок получения результатов ПЦР-исследования составил 1–2 дня.

Рисунок 1. Схема изучения диагностической ценности ПЦР-исследования при ИЭ



Спектр возбудителей для ПЦР-исследования представлен на рисунке 1. Для анализа полученных нуклеотидных последовательностей использовали базу данных Национального центра биотехнологической информации (доступна по ссылке: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Положительным трактовали результат ПЦР-исследования при определении патогена в диагностически и клинически значимой концентрации.

Диагностическую значимость изучаемого метода оценивали по 13 параметрам: чувствительность, специфичность, прогностическая ценность положительного результата, прогностическая ценность отрицательного результата, отношение правдоподобия положительного результата, отношение правдоподобия отрицательного результата, диагностическая эффективность теста или точность, диагностическое отношение шансов, индекс Юдена, число пациентов для получения достоверного результата, сводный прогностический индекс, кажущаяся и истинная частота положительного результата.

Истинным считался возбудитель, определенный при комплексном этиологическом обследовании в сочетании с эпидемиологическими и клиническими данными, показателями эффективности АБТ [12]. Типичные клиниче-

ские данные оценивали согласно известным представлениям о характерных особенностях течения ИЭ в зависимости от вида возбудителя, например, связь золотистого стафилококка с острым течением ИЭ, деструктивным поражением клапанов, в том числе ранее не измененных; для энтерококкового ИЭ – связь с источником инфекции, возрастом пациента; для стрептококкового ИЭ – склонность к подострому течению ИЭ, связь с несанированной полостью рта и стоматологическими вмешательствами и т. д. [2]. При анализе согласованности детектированных микроорганизмов истинному возбудителю соответствием считали совпадение хотя бы одного основного возбудителя между двумя примененными методами (культуральным и ПЦР-исследованием), даже в случае выявления различных видов из группы коагулазанегативного стафилококка и зеленеющего стрептококка. Полным соответствием считали случаи выявления дополнительных патогенов, кроме основного, и микст-инфекции при условии совпадения хотя бы по одному микроорганизму с истинным возбудителем [12].

Трактовка согласованности результатов изучаемых методов включала следующие определения: конкордантный результат (полное совпадение результатов); дискордантный результат (полное несовпадение результатов); контаминация при микробиологическом исследовании (определение представителей комменсалов кожных покровов/не типичных для ИЭ возбудителей в недостаточном количестве проб с/без одновременным положительным результатом молекулярно-биологического исследования на типичный для ИЭ патоген); контаминация при ПЦР-исследовании (выявление представителей комменсалов кожных покровов/не типичных для ИЭ возбудителей с положительным результатом микробиологического исследования на типичный для ИЭ патоген); истинный возбудитель только при микробиологическом/молекулярно-биологическом исследовании.

Статистический анализ полученных данных выполняли с использованием программного обеспечения STATA

16.0. Качественные переменные описывали абсолютными (n) и относительными (%) частотами. Для описания количественных переменных использовали среднее арифметическое значение со стандартным отклонением ($M \pm SD$) или медиану и интерквартильный размах [IQR] – Me [Q1; Q3] в зависимости от распределения данных. Оценку нормальности распределения проводили с помощью теста Колмогорова–Смирнова. Достоверность различий между двумя группами оценивали с помощью критерия Манна–Уитни, Стьюдента (t-тест), хи-квадрат, точного критерия Фишера. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты

В период с 2013 по 2022 г. госпитализированы 345 пациентов с достоверным/вероятным ИЭ (медиана возраста 55,0 лет, 225 (65,2%) лица мужского пола). У большинства пациентов имелся анамнез сердечно-сосудистых заболеваний, у каждого третьего – вирусный гепатит С, у каждого пятого – сахарный диабет 2-го типа. В целом преобладал левосторонний ИЭ нативного клапана (66,1%), а ИЭ протеза клапана или внутрисердечного устройства диагностирован лишь у 15,1% обследованных. Из общей группы пациентов у 154 выполнено одновременное одномоментное микробиологическое и ПЦР-исследование образцов крови (рис. 1).

Пациенты, включенные в исследование, были сопоставимы по основным клиническим и лабораторно-инструментальным параметрам ($p > 0,05$) (табл. 1, рис. 2).

На основании проведенного этиологического обследования у 117 (76,0%) из 154 пациентов выявлены возбудители любым из применяемых исследований (табл. 2).

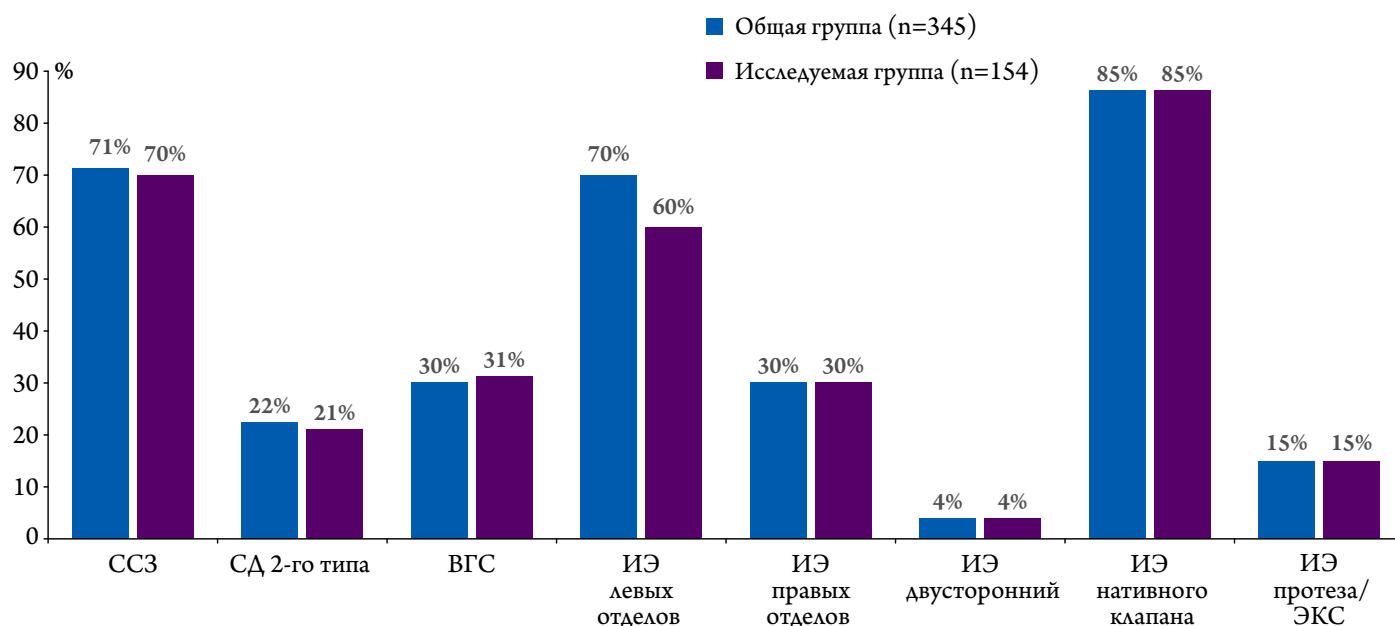
Конкордантность между положительными результатами исследований составила 36,8% ($n=43$). Дискордантные результаты получены у 4 (3,4%) пациентов, у которых достоверный возбудитель не определен, несмотря на выявление типичных патогенов для ИЭ. У 29 (24,8%) пациентов

Таблица 1. Характеристика пациентов с ИЭ, включенных в исследование

Показатель	Общая группа (n=345)	Исследуемая группа (n=154)
Пол (ж), n (%)	120 (34,8)	46 (29,9)
Возраст, годы (Me [Q1; Q3])	55,0 [36,0; 70,0]	52,0 [35,0; 67,0]
Индекс Чарльсона, баллы (Me [Q1; Q3])	5,0 [3,0; 8,0]	4,0 [2,0; 8,0]
Гемоглобин, $\times 10^9/\text{л}$ ($M \pm SD$)	106 $\pm$ 22,7	105,7 $\pm$ 21,6
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$ (Me [Q1; Q3])	11,8 [8,6; 16,5]	10,9 [8,0; 16,9]
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$ (Me [Q1; Q3])	201,0 [133,0; 276,0]	204,0 [138,0; 272,0]
СРБ, мг/л (Me [Q1; Q3])	115,7 [60,9; 191,8]	116,9 [63,9; 187,9]
Креатинин сыворотки, мкмоль/л (Me [Q1; Q3])	96,0 [81,0; 133,0]	96,7 [81,0; 137,0]
СКФ СКД-ЕРІ, мл/мин/1,73 м ² (Me [Q1; Q3])	63,6 [42,9; 87,6]	64,6 [43,8; 91,5]
ФВ левого желудочка, % (Me [Q1; Q3])	56,0 [49,4; 58,1]	57,3 [49,5; 62,7]

При сравнении всех параметров $p > 0,05$. Данные представлены в виде $M \pm SD$ – среднее $\pm$ стандартное отклонение; Me [IQR] – медиана и интерквартильный размах [Q1; Q3]. ИЭ – инфекционный эндокардит; СРБ – С-реактивный белок, СКФ – скорость клубочковой фильтрации, ФВ – фракция выброса.

Рисунок 2. Характеристика пациентов по локализации и форме ИЭ



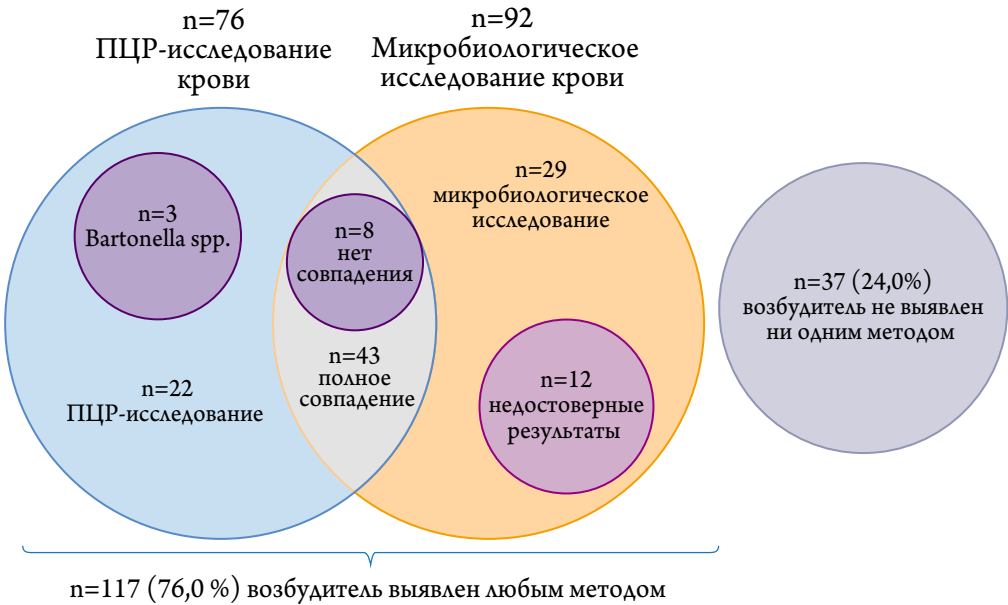
ИЭ – инфекционный эндокардит; ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания;
СД – сахарный диабет; ВГС – вирусный гепатит С; ЭКС – электрокардиостимулятор.

Таблица 2. Сравнение результатов исследований по отношению к истинному возбудителю в образцах крови

№ п/п	Истинный патоген*	Культуральное исследование	ПЦР-исследование	№ п/п	Истинный патоген*	Культуральное исследование	ПЦР-исследование
1–25 (n=25)	<i>S. aureus</i>	+	+	73–77 (n=5)	<i>Str. viridans</i>	+	–
26–28 (n=3)	CoNS**	+	+	78	<i>Str. pneumoniae</i>	+	–
29–35 (n=7)	<i>E. faecalis</i>	+	+	79	<i>G. haemolysans</i>	+	–
36	<i>E. faecium</i>	+	+	80	<i>E. coli</i>	+	–
37	<i>E. coli</i>	+	+	81–87 (n=7)	Нет патогена	+ (но CoNS, контаминация) [#]	–
38	<i>A. baumannii</i>	+	+	88–90 (n=3)	Нет патогена	+ (но <i>K. pneumoniae</i> , контаминация)	–
39	<i>E. coli</i> , CoNS, <i>E. faecalis</i>	+	+	91	Нет патогена	+ (но <i>Acinetobacter spp.</i> , контаминация)	–
40	<i>Str. cristatus</i>	+ (но <i>Str. mitis</i>)	+	92	Нет патогена	+ (но <i>E. faecalis</i> , контаминация) ^{##}	–
41	<i>Str. gallolyticus</i>	+	+	93–103 (n=11)	<i>S. aureus</i>	–	+
42	<i>K. pneumoniae</i>	+	+	104	CoNS	–	+
43	<i>P. aeruginosa</i>	+	+	105–106 (n=2)	<i>Streptococcus spp.</i>	–	+
44	Дискордантный	<i>E. columbae</i>	<i>Str. gallolyticus</i> (<i>Str. bovis</i>)	107–110 (n=4)	<i>Enterococcus spp.</i>	–	+
45–47 (n=3)	Дискордантный	<i>E. faecalis</i>	<i>S. aureus</i>	111	<i>Aspergillus spp.</i>	–	+
48–50 (n=3)	<i>S. aureus</i>	+ (но CoNS, контаминация)	+	112	<i>Pasteurella multocida</i>	–	+
51	<i>Str. constellatus</i>	+ (но <i>G. haemolysans</i> , контаминация)	+	113	<i>E. coli</i>	–	+
52–65 (n=14)	<i>S. aureus</i> MSSA	+	–	114	<i>Enterococcus spp.</i> , <i>Staphylococcus spp.</i>	–	+
66	CoNS***	+	–	115–117 (n=3)	<i>Bartonella spp.</i>	–	+
67–71 (n=5)	<i>E. faecalis</i>	+	–	118–154 (n=37)	Нет патогена	–	–
72	<i>E. faecium</i>	+	–				

ПЦР – полимеразная цепная реакция. * – истинный (достоверный) возбудитель определен на основании интегральной оценки этиологических результатов в комплексе с клиническими данными и эпидемиологическими аспектами, ** – CoNS (*S. epidermidis*, *S. lugdunensis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*), *** – рост в 4 из 4 проб, # – рост в 1 из 3 проб, ## – рост в 1 из 4 проб.

Рисунок 3. Результаты согласованности исследований образцов крови при ИЭ (n=154)



ИЭ – инфекционный эндокардит; ПЦР – полимеразная цепная реакция.

Таблица 3. Критерии определения истинного возбудителя ИЭ в крови

Критерии подтвержденного возбудителя в крови	
1	Возбудитель совпадает при культуральном и молекулярно-биологическом исследовании
2	Возбудитель выявлен только культуральным методом в большинстве проб
3	Возбудитель выявлен только культуральным методом в одной пробе, но является типичным патогеном и соответствует клинической картине ИЭ
4	Возбудитель выявлен только молекулярно-биологическим методом и соответствует клинической картине ИЭ
Критерии исключенного возбудителя в крови	
1	Представители <i>Str. viridans</i> и комменсалов кожных покровов* выявлены только в одной пробе культуральным методом, не подтверждены другим методом**, не соответствуют клинической картине ИЭ
2	Представители <i>Str. viridans</i> и комменсалов кожных покровов* выявлены только в одной пробе культуральным методом, а другим методом** определен типичный для ИЭ патоген с соответствующей клинической картиной
3	Представители <i>Str. viridans</i> и комменсалов кожных покровов* выявлены только молекулярно-биологическим методом, а культуральным методом определен типичный для ИЭ патоген с соответствующей клинической картиной
4	Выявление любого патогена любым методом (микробиологическое или молекулярно-биологическое исследование), не соответствующего клинической картине и результатам иных лабораторных исследований

ИЭ – инфекционный эндокардит. * – *CoNS*, *Propionibacterium acnes* и др., ** – например, молекулярно-биологический метод.

этиологическая принадлежность ИЭ установлена только при микробиологическом исследовании образцов крови, представлена в 27/29 (93,1%) случаев грамположительными традиционными кокковыми патогенами. У каждого

четвертого пациента при негативных результатах культуральных исследований возбудитель ИЭ установлен только молекулярно-биологическим методом. При этом помимо грамположительных кокковых возбудителей (17/25; 68,0%) выявлены три представителя *Bartonella* spp.

Среди положительных результатов микробиологического исследования контаминация диагностирована в 17,4% (n=16), из них в 25,0% (n=4) образцов крови методом ПЦР определен достоверный патоген. У 12 пациентов контаминация при культуральном исследовании была связана

с определением патогена в незначимом количестве диагностических проб либо отсутствовало соответствие клинической картине ИЭ и эффективности АБТ. ИЭ с неустановленной этиологической принадлежностью отмечен у каждого четвертого обследованного пациента (рис. 3).

Суммируя полученные данные комплексного этиологического обследования пациентов с ИЭ, можно сделать вывод, что молекулярно-биологические исследования дали новую важную информацию у 47 (30,5%) из 154 пациентов (впервые выявленные возбудители, уточненные положительные результаты культурального исследования).

Отдельно отметим, что комменсалы кожных покровов диагностированы при культуральном исследовании у каждого 6-го пациента. Клинически значимые результаты подтверждены только у 4 пациентов. У 10 обследованных сделано заключение о контаминации исследуемого материала на преаналитическом этапе выполнения микробиологического исследования: у 7 пациентов не было соответствия возбудителя особенностям клинической картины и характеру течения ИЭ, отмечались неэффективность АБТ и отрицательные результаты ПЦР-исследования; у 3 пациентов методом ПЦР определен типичный патоген. Лишь у 1 пациента неоднократно подтвержденный представитель *CoNS*, выявленный при микробиологическом исследовании крови, соотносился с клинической картиной и характером течения ИЭ, с соответствующей эффективностью АБТ, что позволило отнести патоген к категории истинно положительных. Таким образом, 2 из 3 положительных результатов культурального исследования, в первую очередь на *CoNS*, *K. pneumoniae* и *Acinetobacter* spp., имеют высокую вероятность принадлежности к контаминации.

нации биологического материала и не подтверждаются молекулярно-биологическими исследованиями.

На основании полученных данных комплексного определения этиологии ИЭ были разработаны критерии подтверждения возбудителя (табл. 3).

Среди пациентов с установленной этиологией ИЭ критерии подтвержденного возбудителя имелись у 105, представленные критерием № 1 – у 43 (41,0%), критерием № 2 – у 26 (25,0%), критерием № 3 – у 3 (3,0%), критерием № 4 – у 29 (27,0%) и у 4 пациентов имелись дикордантные результаты. Критерии исключенного возбудителя получены у 23 из 117 пациентов, представленные критерием № 1 – у 7 (30,0%), критерием № 2 – у 3 (13,0%), критерием № 4 – у 13 (56,5%). При этом критерий исключения № 3 не был применен ни в одном случае.

Исследование 13 показателей диагностической информативности этиологических тестов показало, что микробиологическое и молекулярно-биологическое исследования крови обладают сопоставимо высокими диагностическими показателями (табл. 4).

Благодаря интегральному подходу к определению этиологической принадлежности ИЭ нам удалось выполнить деэскалацию антимикробной терапии у 30% пациентов и 9 пациентов стратифицировать в достоверный ИЭ.

Полученные доказательства диагностической эффективности молекулярно-биологических исследований крови у пациентов с ИЭ позволили усовершенствовать стандартный алгоритм этиологической диагностики ИЭ. У пациентов с ИЭ целесообразно в дополнение к культуральному исследованию раннее (до или на начальных этапах АБТ, в первые 24–48 ч от момента постановки диагноза) выполнение молекулярно-биологического исследования на узкий спектр патогенов наибольшего интереса для точной верификации (*Streptococcus spp.*, *S.aureus*, *CoNS*, *Enterococcus spp.*) в качестве метода-контроля. Затем при необходимости выполняют повторное исследование тех же

проб на редких и трудно культивируемых возбудителях, что позволит как минимум у каждого третьего пациента уменьшить частоту недостоверных и отрицательных результатов микробиологического исследования (рис. 4).

Обсуждение

Трудно переоценить значение качественной этиологической диагностики для ИЭ, от которой зависят не только постановка диагноза, но и выбор эффективного лечения. С практической точки зрения наиболее трудным остается установление связи текущего эпизода ИЭ с выявленным патогеном. Однако прежде всего сложности этиологической диагностики обусловлены высокой распространенностью культуронегативного ИЭ или ИЭ со спорными результатами микробиологических исследований [2–8].

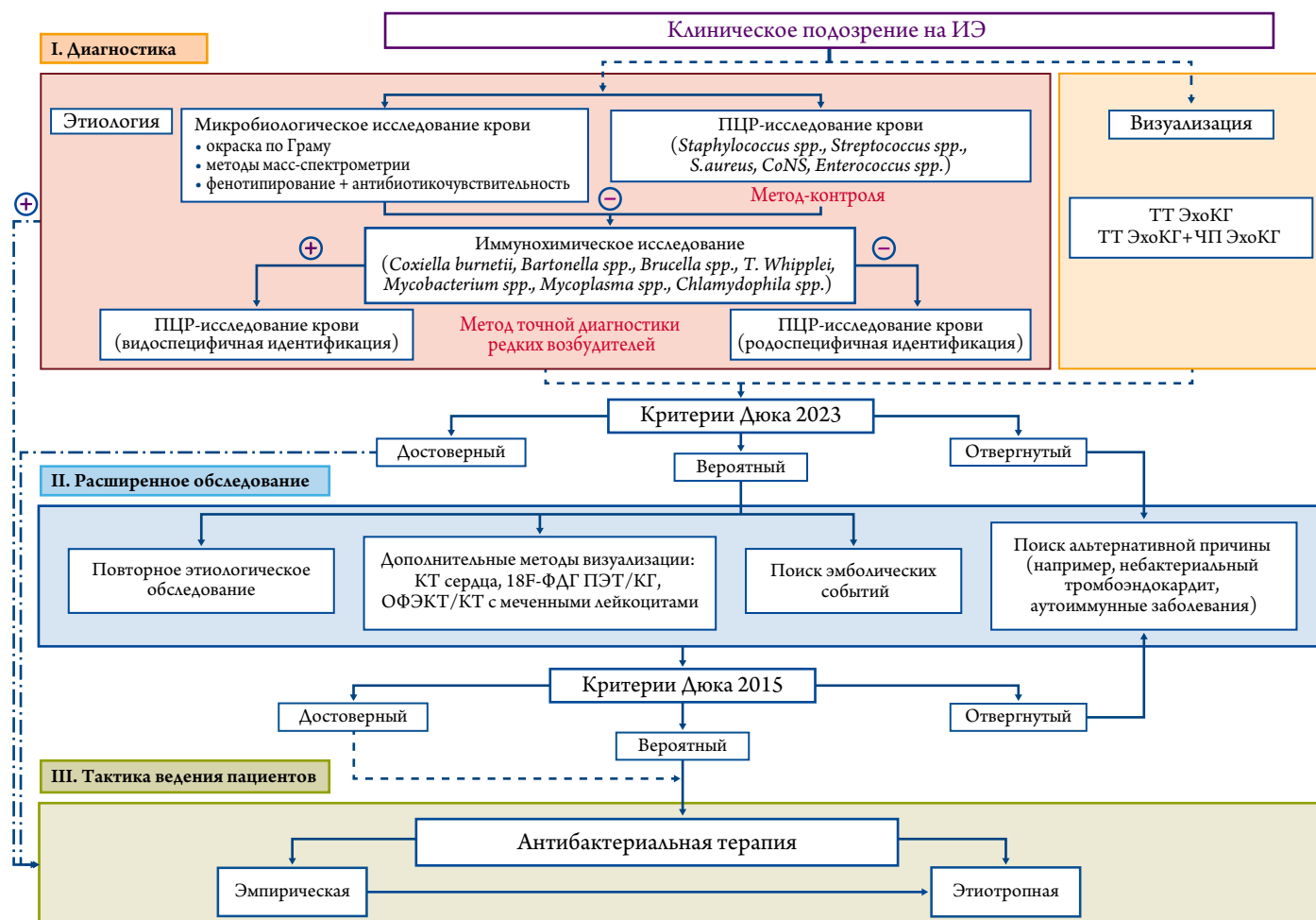
Представлено одно из первых проспективных когортных исследований в крупной популяции пациентов с ИЭ, направленное на углубленную оценку диагностической эффективности и места молекулярно-биологических исследований в этиологической диагностике. Такой подход представляет новую стратегию своевременного и точного определения этиопатогенетически значимого возбудителя ИЭ. В представленном исследовании мы установили верный этиологический диагноз ИЭ у 105 (68,2%) из 154 пациентов благодаря проведению молекулярно-биологических исследований образцов крови в сочетании с микробиологическим исследованием.

Анализ глубины изученности диагностической ценности молекулярно-биологических методов у пациентов с ИЭ показал малую исследованность проблемы с недостаточным количеством работ на крупных популяциях [10, 12, 14, 15, 20–22]. В большинстве работ основным биологическим материалом для изучения диагностического вклада метода ПЦР являлись ткани резецированных клапанов, в то время как образцы цельной крови анализировались лишь в 5 исследованиях на уровне анализа

Таблица 4. Диагностические характеристики этиологических методов у пациентов с ИЭ

Показатель	Метод исследования образцов крови	
	микробиологический	молекулярно-биологический
Чувствительность, %	79	67
Специфичность, %	86	93
Прогностическая ценность положительного результата, %	92	96
Прогностическая ценность отрицательного результата, %	67	51
Отношение правдоподобия положительного результата	5,6	9,2
Отношение правдоподобия отрицательного результата	0,3	0,4
Диагностическая эффективность теста (точность), %	81	74
Диагностическое отношение шансов	23,0	26,0
Индекс Юдена, %	65	60
Число пациентов для получения достоверного результата	1,5	1,7
Сводный прогнозный индекс, %	59	47
Кажущаяся частота положительного результата, %	57	51
Истинная частота положительного результата, %	67	73

Рисунок 4. Модификация пошагового алгоритма диагностики ИЭ, дополненная проведением молекулярно-биологических исследований на первичном этапе обследования



Этап этиологической диагностики № 1 – раннее выполнение молекулярно-биологического исследования (до или на начальных этапах антибактериальной терапии, в первые 24–48 ч от момента постановки диагноза ИЭ) в дополнение к культуральному исследованию только на узкий спектр патогенов наибольшего интереса для точной верификации (*Streptococcus spp.*, *S. aureus*, *CoNS*, *Enterococcus spp.*) в качестве метода-контроля. Этап этиологической диагностики № 2 – при сохраняющейся неопределенности в отношении этиологической принадлежности ИЭ – повторное исследование ранее полученных проб на редких и трудно культивируемых возбудителях. ИЭ – инфекционный эндокардит; ПЦР – полимеразная цепная реакция; ТТ ЭхоКГ – трансторакальная эхокардиография; ЧП ЭхоКГ – чреспищеводная эхокардиография; КТ – компьютерная томография; ПЭТ – позитронная эмиссионная томография; ОФЭКТ – однофотонная эмиссионная компьютерная томография.

в подгруппах [10, 12, 14, 15, 20–22]. Нам представляется наиболее удобным и практически востребованным именно исследование образцов крови, в связи с чем наше проспективное исследование с охватом большой когорты пациентов является уникальным.

В ограниченной серии научных работ у пациентов с ИЭ продемонстрирована низкая или умеренная частота (13,2–38,3%) положительных результатов молекулярно-биологических исследований при изучении образцов крови [14–16], в то время как в нашем исследовании получен более высокий уровень положительных результатов, достигший 49,4%, вероятно, обусловленный дизайном нашего исследования.

Среди пациентов с отрицательными результатами микробиологического исследования образцов крови впер-

вые этиологическая принадлежность ИЭ методом ПЦР установлена у 25 (40,3%) из 62 пациентов, в том числе у 3 с выявлением *Bartonella spp.* Отметим отдельно, что полученные результаты оказались более успешными при сопоставлении с результатами ранее проведенных исследований, указывающими на более низкую частоту впервые выявленных возбудителей при молекулярно-биологических исследованиях (1,3–7,7%) [14, 15, 23]. Такой феномен, вероятно, объясним концепцией нашего исследования, основанной на раннем проведении ПЦР-исследования (до или на начальных этапах АБТ, в первые 24–48 ч от момента постановки диагноза ИЭ), позволяющем минимизировать вклад АБТ в диагностику. Не исключена также дополнительная роль более совершенной техники проведения самого ПЦР-исследования.

Анализ распределения возбудителей, выявленных методом ПЦР при отрицательных результатах микробиологического исследования крови на принадлежность к неприхотливым патогенам, показал, что основную долю составляют типичные грамположительные кокки. Данный аспект подтверждает, что наиболее частой причиной отрицательных результатов микробиологического исследования крови является предшествующая АБТ, приводящая к достижению концентрации возбудителя в исследуемом биологическом материале ниже порогового уровня определения.

Отдельно отметим дискордантные положительные результаты анализируемых исследований у 4 пациентов с невозможностью достоверного выделения наиболее значимого возбудителя. Полученные нами сведения согласуются с аналогичной низкой частотой несовпадающих результатов, по данным литературы [10, 17, 20]. Выбор АБТ у представленных пациентов был осуществлен с учетом перекрытия обоих патогенов.

У 29 пациентов при положительных результатах культурального исследования получены ложноотрицательные результаты молекулярно-биологического исследования, в 9 из 10 случаев представленные кокковой флорой (стафилококки, энтерококки и стрептококки). По данным литературы, вариабельность ложноотрицательных результатов ПЦР-исследования составляет от 3,4 до 23,7% [10, 15, 17, 24, 25]. Среди возможных причин авторы наиболее часто обсуждают связь ложноотрицательных результатов ПЦР-исследования с проведением АБТ до постановки диагноза и недостаточным объемом исследуемого биологического материала [11, 17, 21, 26].

Трудно интерпретируемые результаты микробиологического исследования крови остаются одной из наиболее неразрешенных проблем для практикующего врача, оценивающего связь выявленного патогена с активностью болезни. В нашем исследовании отмечена высокая частота выявления культуральным методом представителей комменсалов кожных покровов и нетипичных для ИЭ патогенов (25,0%). Среди них 69,6% оказались не подтверждены молекулярно-биологическим исследованием. У этих пациентов АБТ была скорректирована с учетом результатов молекулярно-биологического исследования. Ранее К. Armstrong и соавт. (2021) [27] сообщали об аналогичных данных.

В. Peeters и соавт. [10], М. Halavaara и соавт. [28], К. Armstrong и соавт. [27] в ранее проведенных исследованиях отметили дополнительную диагностическую ценность ПЦР-исследования образцов крови/тканей резецированных клапанов. В нашем исследовании благодаря раннему выполнению ПЦР-исследования у каждого третьего пациента получены дополнительные этиологические сведения с определением возбудителя при отрицательных (n=25) и сомнительных результатах (n=22) микробиологического исследования. Все перечисленное характеризует ПЦР-исследование крови при ИЭ высокоинформативным

и диагностически ценным методом. Таким образом, дополнительное включение ПЦР-исследования образцов крови в традиционный алгоритм диагностики на начальном этапе способствует увеличению числа случаев ИЭ с точно установленной этиологией от 46,8 до 68,2%. Благодаря возможности точной верификации истинного возбудителя ИЭ получено значительное терапевтическое влияние, позволившее назначить таргетную АБТ у каждого третьего пациента.

Одной из первых работ по формулированию критериев достоверного возбудителя на основании культурального и молекулярно-биологического исследований крови/клапанов является работа N.K. Shrestha и соавт. [12], ограниченная оперированными пациентами с ИЭ. В нашем исследовании также представлены критерии определения подтвержденного возбудителя, сформированные на основании согласованности двух независимых исследований образцов крови (микробиологическое и ПЦР-исследование), дополненных клиническими и эпидемиологическими параметрами. Отдельно отметим, что представленные критерии могут применяться у всех пациентов с ИЭ.

Необходимость модификации критериев Дюка, в том числе с преобразованием этиологических критериев, длительно обсуждается в зарубежной литературе [29]. V.G. Fowler и соавт. [29] и Международное общество сердечно-сосудистых инфекционных заболеваний (ISCID) (2023) предложили добавить результаты ПЦР-исследования, в первую очередь тканей резецированных клапанов, в малые критерии Дюка. Ранее А. J. К. Rescora и соавт. (2022) внедрили [30] результаты иммунохимического исследования на *Bartonella spp.* в большие критерии Дюка, что позволило на 20,0% повысить их чувствительность. Мы дополнили большие или малые критерии Дюка результатами ПЦР-исследований образцов крови, что позволило увеличить их количество на 10,4% (16 человек) и реклассифицировать диагноз ИЭ до достоверного у 9 пациентов.

В анализируемой когорте пациентов ПЦР-исследование образцов крови показало высокие чувствительность, специфичность и диагностическую точность (67,0, 93,0 и 74,0% соответственно), сопоставимые с таковыми микробиологического исследования (79,0, 86,0 и 81,0% соответственно). Полученные нами результаты по чувствительности для микробиологического исследования крови полностью согласуются с данными литературы (41,0–91,0%) [12, 13, 31], но при этом значительно превышают ранее известные параметры для ПЦР-исследования крови на 14,0–34,0% [14, 16]. Мы предполагаем, что это обусловлено дизайном нашего исследования, основанным на раннем выполнении молекулярно-биологических исследований крови.

Доказанные аспекты пользы молекулярно-биологических исследований крови для определения этиологии ИЭ, в первую очередь при отрицательных или трудно интерпретируемых результатах культурального исследования, позво-

лили преобразовать стандартный алгоритм этиологической диагностики ИЭ. Мы предлагаем уже на начальном этапе обследования дополнять традиционное микробиологическое исследование крови проведением ПЦР-исследования. Первый шаг – тестирование образцов методом ПЦР только на выявление стрептококков, стафилококков и энтерококков. Второй шаг – при сохраняющейся неопределенности (из ранее сохраненных образцов) дополнить поиск ПЦР-исследованием на широкий спектр патогенов. Такой дифференцированный подход этиологического обследования при ИЭ направлен на повышение точности и частоты определения этиопатогенетического агента.

Наше исследование имело несколько ограничений: одноцентровость, невозможность соотнесения полученных результатов с исследованием тканей резецированных клапанов (отсутствие показаний к кардиохирургическому лечению). Одновременно последний определяет близость нашего исследования к клинической практике, когда перед врачом встает вопрос интерпретации выполненного микробиологического исследования крови, не всегда соответствующего стандартам качества. Кроме того, нас ограничивала невозможность проведения иммунохимических исследований на *Coxiella burnetii*, *Bartonella spp.*, *Brucella spp.* и др., не применяющихся в повседневной клинической практике, в связи с чем мы расширили спектр патогенов, изучаемых при ПЦР-исследовании, для каждого пациента. Нас также ограничивала невозможность прямого сравнения полученных данных с мировой литературой из-за отсутствия аналогичных по дизайну исследований, однако это лишь дополнительно подчеркнуло ценность и актуальность представленного исследования.

Заключение

Полученные результаты комплексного подхода к этиологической диагностике инфекционного эндокардита на основании исследования образцов крови двумя раз-

ными методами (микробиологический и исследование с применением полимеразной цепной реакции) позволили определить, что достоверные положительные данные традиционных культуральных исследований имеются менее чем у 50% пациентов. У каждого третьего обследованного патоген либо впервые выявлен только при исследовании образцов крови с применением полимеразной цепной реакции, либо предположена контаминация комменсалами кожных покровов и внутрибольничной флорой при выполнении микробиологического исследования крови. Диагностическая польза исследования с применением полимеразной цепной реакции отмечена более чем у 30% обследованных пациентов, что позволило своевременно скорректировать антибактериальную терапию. Тщательный анализ результатов дал возможность сформулировать параметры верификации истинного возбудителя, на этом основании выявить дополнительные критерии инфекционного эндокардита и увеличить долю достоверного инфекционного эндокардита. Предложенная модификация этапов этиологической диагностики инфекционного эндокардита позволяет дифференцированно применять дополнительные молекулярно-биологические исследования у каждого пациента, но в первую очередь, при инфекционном эндокардите с неустановленным возбудителем.

Финансирование

Клиническая часть исследования выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 22-75-10012), в том числе включающая сбор и хранение биологического материала человека.

Конфликт интересов отсутствует.

Статья поступила 25.12.2024

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Yang X, Chen H, Zhang D, Shen L, An G, Zhao S. Global magnitude and temporal trend of infective endocarditis, 1990–2019: results from the Global Burden of Disease Study. *European Journal of Preventive Cardiology*. 2022;29(8):1277–86. DOI: 10.1093/eurjpc/zwab184
2. Kobalava Zh.D., Kotova E.O. Global and national trends in the evolution of infective endocarditis. *Kardiologiya*. 2023;63(1):3–11. [Russian: Кобалава Ж.Д., Котова Е.О. Глобальные и национальные тренды эволюции инфекционного эндокардита. *Кардиология*. 2023;63(1):3–11]. DOI: 10.18087/cardio.2023.1.n2307
3. Demin A.A., Kobalava Zh.D., Skopin I.I., Tyurin P.V., Boytsov S.A., Golukhova E.Z. et al. Infectious endocarditis and infection of intracardiac devices in adults. *Clinical guidelines 2021*. *Russian Journal of Cardiology*. 2022;27(10):113–92. [Russian: Демин А.А., Кобалава Ж.Д., Скопин И.И., Тюрин В.П., Бойцов С.А., Голухова Е.З. и др. Инфекционный эндокардит и инфекция внутрисердечных устройств. *Клинические рекомендации 2021*. *Российский кардиологический журнал*. 2022;27(10):113–192]. DOI: 10.15829/1560-4071-2022-5233
4. Delgado V, Ajmone Marsan N, De Waha S, Bonaros N, Brida M, Burri H et al. 2023 ESC Guidelines for the management of endocarditis. *European Heart Journal*. 2023;44(39):3948–4042. DOI: 10.1093/eurheartj/ehad193
5. Kotova E.O., Domonova E.A., Kobalava Zh.D., Karaulova Yu.L., Pisaryuk A.S., Balatskiy A.V. et al. Modern trends in identification of causative agents in infective endocarditis. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2021;17(1):153–64. [Russian: Котова Е.О., Домонова Э.А., Кобалава Ж.Д., Караулова Ю.Л., Писарюк А.С., Балацкий А.В. и др. Современные тренды этиологической диагностики инфекционного эндокардита. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2021;17(1):153–64]. DOI: 10.20996/1819-6446-2021-02-14
6. Shadrina U.M., Korzhova M.A., Litskevich N.O., Antonova I.V., Gordeev M.L., Demchenko E.A. et al. Clinical and morphological features of infective endocarditis of native and prosthetic heart valves. *Russian Journal of Cardiology*. 2023;28(11):68–73. [Russian: Шадрина У.М., Коржова М.А., Лицкевич Н.О., Антонова И.В., Гордеев М.Л., Демченко Е.А. и др. Клинико-патоморфологические особенности пациентов с инфекционным эндокардитом нативных и протезированных клапанов сердца. *Российский кардиологический журнал*. 2023;28(11):68–73]. DOI: 10.15829/1560-4071-2023-5651

7. Danilov A.I., Alekseeva I.V., Asner T.V., Vlasova E.E., Drozdovich E.L., Elokhina E.V. et al. Real practice of therapy of infective endocarditis in the Russian Federation: intermediate results of the MAE-STRO study. Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy. 2013;15(2 S1):18–9. [Russian: Данилов А.И., Алексеева И.В., Аснер Т.В., Власова Е.Е., Дроздович Е.Л., Елохина Е.В. и др. Реальная практика терапии инфекционного эндокардита в РФ: промежуточные результаты исследования МАЭСТРО. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2013;15(2 S1):18–9]
8. Habib G, Erba PA, Jung B, Donal E, Cosyns B, Laroche C et al. Clinical presentation, aetiology and outcome of infective endocarditis. Results of the ESC-EORP EURO-ENDO (European infective endocarditis) registry: a prospective cohort study. European Heart Journal. 2019;40(39):3222–32. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz620
9. Abdelgawad H, Azab S, Ayman Abdel-Hay M, Almaghraby A. Clinical features and outcomes of infective endocarditis: a single-centre experience. Cardiovascular Journal of Africa. 2023;34(2):20–6. DOI: 10.5830/CVJA-2022-027
10. Peeters B, Herijgers P, Beuselinck K, Verhaegen J, Peetermans WE, Herregods M-C et al. Added diagnostic value and impact on antimicrobial therapy of 16S rRNA PCR and amplicon sequencing on resected heart valves in infective endocarditis: a prospective cohort study. Clinical Microbiology and Infection. 2017;23(11):888.e1–888.e5. DOI: 10.1016/j.cmi.2017.06.008
11. Boujelben I, Gdoura R, Hammami A. A broad-range PCR technique for the diagnosis of infective endocarditis. Brazilian Journal of Microbiology. 2018;49(3):534–43. DOI: 10.1016/j.bjm.2017.03.019
12. Shrestha NK, Ledtke CS, Wang H, Fraser TG, Rehm SJ, Hussain ST et al. Heart Valve Culture and Sequencing to Identify the Infective Endocarditis Pathogen in Surgically Treated Patients. The Annals of Thoracic Surgery. 2015;99(1):33–7. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2014.07.028
13. Bast A, Dohmen PM, Podbielski A, Warnke P. Rapid Microbiological Diagnostics from Implanted Heart Valves by a Multiplex PCR Assay. Journal of Clinical Microbiology. 2019;57(2):e01575–18. DOI: 10.1128/JCM.01575-18
14. Fournier P-E, Gouriet F, Casalta J-P, Lepidi H, Chaudet H, Thuny F et al. Blood culture-negative endocarditis: Improving the diagnostic yield using new diagnostic tools. Medicine. 2017;96(47):e8392. DOI: 10.1097/MD.00000000000008392
15. El-Kholy AA, El-Rachidi NGE, El-Enany MG, AbdulRahman EM, Mohamed RM, Rizk HH. Impact of serology and molecular methods on improving the microbiological diagnosis of infective endocarditis in Egypt. Infection. 2015;43(5):523–9. DOI: 10.1007/s15010-015-0761-2
16. Sadaka SM, El-Ghazzawy IF, Hassanen MM, Abu El Kasem AS, Nour El Din AM, Meheissen MA. Molecular and serological techniques for the diagnosis of culture negative infective endocarditis in Alexandria Main University Hospital. The Egyptian Heart Journal. 2013;65(3):145–52. DOI: 10.1016/j.ehj.2012.08.001
17. Miller RJH, Chow B, Pillai D, Church D. Development and evaluation of a novel fast broad-range 16S ribosomal DNA PCR and sequencing assay for diagnosis of bacterial infective endocarditis: multi-year experience in a large Canadian healthcare zone and a literature review. BMC Infectious Diseases. 2016;16(1):146. DOI: 10.1186/s12879-016-1476-4
18. Habib G, Lancellotti P, Antunes MJ, Bongiorni MG, Casalta J-P, Del Zotti F et al. 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis: The Task Force for the Management of Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC) Endorsed by: European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS), the European Association of Nuclear Medicine (EANM). European Heart Journal. 2015;36(44):3075–128. DOI: 10.1093/eurheartj/ehv319
19. Domonova E.A., Tvorogova M.G., Podkolzin A.T., Shipulina O.Yu., Karan L.S., Yatsyshina S.B. et al. Collection, transportation and storage of biological material for PCR diagnostics: Guidelines. - M.: FBSI Central Research Institute for Epidemiology, 2021. - 112p. [Russian: Домонова Э.А., Творогова М.Г., Подколзин А.Т., Шипулина О.Ю., Карань Л.С., Яцышина С.Б. и др. Взятие, транспортировка, хранение биологического материала для ПЦР-диагностики: методические рекомендации. - М: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии, 2021. - 112с]. ISBN 978-5-604-52866-2
20. Harris KA, Yam T, Jalili S, Williams OM, Alshafi K, Gouliouris T et al. Service evaluation to establish the sensitivity, specificity and additional value of broad-range 16S rDNA PCR for the diagnosis of infective endocarditis from resected endocardial material in patients from eight UK and Ireland hospitals. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. 2014;33(11):2061–6. DOI: 10.1007/s10096-014-2145-4
21. Greub G, Lepidi H, Rovey C, Casalta J-P, Habib G, Collard F et al. Diagnosis of infectious endocarditis in patients undergoing valve surgery. The American Journal of Medicine. 2005;118(3):230–8. DOI: 10.1016/j.amjmed.2004.12.014
22. Sinitsky M.Yu., Asanov M.A., Tkorenko B.A., Odarenko Yu.N., Ponasenkov A.V. Microflora of peripheral blood obtained from patients with infective endocarditis. Russian Clinical Laboratory Diagnostics. 2018;63(10):636–40. [Russian: Синицкий М.Ю., Асанов М.А., Тхоренко Б.А., Одаренко Ю.Н., Понасенко А.В. Микрофлора периферической крови пациентов с инфекционным эндокардитом. Клиническая лабораторная диагностика. 2018;63(10):636–40]. DOI: 10.18821/0869-2084-2018-63-10-636-640
23. Bosshard PP, Kronenberg A, Zbinden R, Ruef C, Bottger EC, Altwegg M. Etiologic Diagnosis of Infective Endocarditis by Broad-Range Polymerase Chain Reaction: A 3-Year Experience. Clinical Infectious Diseases. 2003;37(2):167–72. DOI: 10.1086/375592
24. Kotilainen P, Heiro M, Jalava J, Rantakokko V, Nikoskelainen J, Nikkari S et al. Aetiological diagnosis of infective endocarditis by direct amplification of rRNA genes from surgically removed valve tissue. An 11-year experience in a Finnish teaching hospital. Annals of Medicine. 2006;38(4):263–73. DOI: 10.1080/07853890600622119
25. Le Guern R, Loiez C, Armand S, Marceau L, Courcol R, Wallet F. Infective endocarditis: does a new 16S rDNA set of primers improve the microbiological diagnosis? Infectious Diseases. 2015;47(12):896–901. DOI: 10.3109/23744235.2015.1075661
26. Vondracek M, Sartipy Ulrik, Aufwerber E, Julander I, Lindblom D, Westling K. 16S rDNA sequencing of valve tissue improves microbiological diagnosis in surgically treated patients with infective endocarditis. Journal of Infection. 2011;62(6):472–8. DOI: 10.1016/j.jinf.2011.04.010
27. Armstrong C, Kuhn TC, Dufner M, Ehlermann P, Zimmermann S, Lichtenstern C et al. The diagnostic benefit of 16S rDNA PCR examination of infective endocarditis heart valves: a cohort study of 146 surgical cases confirmed by histopathology. Clinical Research in Cardiology. 2021;110(3):332–42. DOI: 10.1007/s00392-020-01678-x
28. Halavaara M, Martelius T, Järvinen A, Antikainen J, Kuusela P, Salminen U-S et al. Impact of pre-operative antimicrobial treatment on microbiological findings from endocardial specimens in infective endocarditis. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. 2019;38(3):497–503. DOI: 10.1007/s10096-018-03451-5
29. Fowler VG, Durack DT, Selton-Suty C, Athan E, Bayer AS, Chamis AL et al. The 2023 Duke-International Society for Cardiovascular Infectious Diseases Criteria for Infective Endocarditis: Updating the Modified Duke Criteria. Clinical Infectious Diseases. 2023;77(4):S18–26. DOI: 10.1093/cid/ciad271
30. Pecoraro AJK, Herbst PG, Pienaar C, Taljaard J, Prozesky H, Janson J et al. Modified Duke/European Society of Cardiology 2015 clinical criteria for infective endocarditis: time for an update? Open Heart. 2022;9(1):e001856. DOI: 10.1136/openhrt-2021-001856
31. Kim M-S, Chang J, Kim M-N, Choi S-H, Jung S-H, Lee J-W et al. Utility of a Direct 16S rDNA PCR and Sequencing for Etiological Diagnosis of Infective Endocarditis. Annals of Laboratory Medicine. 2017;37(6):505–10. DOI: 10.3343/alm.2017.37.6.505